Aus der Hygienisch-bakteriologischen Abteilung der
Militärärztlichen Akademie

Die Arbeit entstand in der Zeit vom 1. März 1937 bis 15. Februar 1938 unter
Leitung des Herrn Oberstarzt Dozent Dr. Brekenfeld

Über die Sporenbildung von Bazillen

in

geschüttelten und ungeschüttelten Nährböden bei verschiedenen Temperaturen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des

Medizinischen Doktorgrades

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

Vorgelegt von

Heinrich Wittich

aus Meißen

Tag der Promotion: 16. Januar 1940

Vestische Druckerei- u. Verlags-Aktien-Gesellschaft, Recklinghausen

M 405

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Kreuz

Referent: Dozent Dr. Brekenfeld

Korreferent: Prof. Dr. Zeiß

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die Sporenbildung von Bazillen

in geschüttelten und ungeschüttelten Nährböden bei verschiedenen Temperaturen

In dem maßgebenden Schrifttum sind bisher noch keine Versuche beschrieben worden, die sich mit der Sporenbildung von Bazillen unter Einwirkung von verschiedenen Umwelteinflüssen befassen. Die Autoren, die Sporenbildung beschrieben haben, versuchen lediglich die Ursachen zu ergründen, die eine Sporulation der Bazillen auszulösen vermögen. Ihre Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen :

Das Vermögen, Sporen zu bilden, hängt im Allgemeinen von guten Ernährungsbedingungen ab, wie sie auch für eine gute vegetative Entwicklung des Bazillus erforderlich sind. (1)

Die Sporulation tritt aber erst dann ein, wenn die Bazillen älter werden, d. h. wenn sie das Stadium ihrer größten Vermehrungsmöglichkeit bereits überschritten haben.

Das Altern wird durch Wasserentzug aus dem Bazillus und damit auch aus den im Bazillus gelösten kolloiden Substanzen hervorgerufen. (1)

Von Daranyi nennt diesen Vorgang „Kolloide Entquellung". Er will damit ausdrücken, daß die kolloiden Substanzen, die sich im Zustand der Quellung befunden haben, durch den Wasserverlust gewissermaßen „entquollen" sind. Daraus folgt, daß die Sporenbildung in erster Linie durch „kolloide Entquellung" ausgelöst wird. Der wichtigste Faktor, der zur Sporulation führt, ist die Verminderung des Wassergehalts im Bazillus. Es tritt Histeresis ein. So sollen zwei Faktoren ausschlaggebend für die Sporenbildung sein (1):

1. Entsprechendes Alter, bedingt durch Wasserentzug und dadurch hervorgerufene Kolloidentquellung.
2. Günstige Nährbodenbedingungen.

Daraus kann man folgern, daß ungünstige Einflüsse und ungenügende Ernährung, denen die Bazillen während des Stadiums ihrer Vermehrung ausgesetzt werden, die Sporenbildung in Frage stellen, bzw. sie ganz aufheben. (2)

Der Zweck vorliegender Arbeit ist es, zu prüfen,

1. ob die Temperatur des Nährbodens, bzw. der Umwelt einen Einfluß auf die Sporenbildung des Bazillus ausübt,
2. inwieweit die Sporenbildung durch Schütteln des Bazillus beeinflußt wird,
3. in welchem Maße sich die von Schreiber und von Daranyi ausgesprochenen Vermutungen bestätigen.

Arbeitsplan

Wir wollten die Versuche mit Bazillus Subtilis als Sporenbildner der Aerobier und mit Bazillus Tetanus und Rauschbrand als bekannt gute Sporenbildner unter den Anaerobiern durchführen.

Die Nährböden für die Bazillen wollten wir so wählen, daß einer für die vegetative Entwicklung der Bazillen die denkbar günstigsten Bedingungen, ein anderer ausgesprochen schlechte und ein dritter dem gewöhnlichen Leben möglichst nahestehende Bedingungen bot.

Als günstiger Nährboden erschien uns für die Aerobier Bouillon, für die Anaerobier Leber-Bouillon, als Nährboden mit schlechten Lebensbedingungen sollte sterilisiertes Leitungswasser und als Nährboden, der den natürlichen Lebensverhältnissen der Bazillen am meisten entspricht, Milch Verwendung finden.

Bestimmte Nährbodenmengen wollten wir nun mit möglichst gleichgroßen Keimzahlen beimpfen und teils schütteln, teils in Ruhe halten, beides bei Brutschrank- und Zimmertemperatur. Je nach dem Stande der Versporung war dann nach 24 oder 48 Stunden eine Zählung der Sporen vorzunehmen.

Zu unseren Versuchen wurden zwei Schüttelapparate verwendet, von denen der eine in einem auf 37° C gehaltenen Brutschrank eingebaut war, während der andere, in dem wir die Keime bei Zimmertemperaturen schütteln wollten, auf einem Flur aufgestellt war. Da wir keine Mittel hatten, auch die Zimmertemperaturen konstant zu halten, so waren die jeweiligen Flurtemperaturen für die Versuche maßgebend. Der in dem Brutschrank eingebaute Apparat erlaubte ein Schütteln der Nährböden, die sich in Reagenzgläschen befanden, um annähernd die Mitte der Längsachse des liegenden Röhrchens. 30 Auf- und Abbewegungen wurden pro Minute ausgeführt. Dies wurde dadurch erreicht, daß im Brutschrank ein Kasten mit rechteckiger Grundfläche so eingebaut wurde, daß er in der Mitte der Schmalseiten des Kastenbodens, in der Längsachse beweglich, aufgehangen werden konnte. Die Auf- und Abbewegungen führte eine beweglich an der Welle eines elektrischen Motors exzentrisch angebrachte Stange aus, die mit der Breitseite des Kastens beweglich verbunden war. Der auf dem Flur aufgestellte Apparat, ein Fabrikat der Firma F. u. M. Lautenschläger, schüttelte die Röhrchen in horizontaler Ebene mit 115 Hin- und Zurückbewegungen pro Minute.

Unsere erste Aufgabe bestand nun darin, eine geeignete Methode für die Sichtbarmachung der Sporen zu finden. Zunächst versuchten wir es mit Hilfe der Thoma-Zeiß'schen Zählkammer. Es zeigte sich jedoch 1., daß man die Sporen nur schlecht, ja oft überhaupt nicht sichtbar machen konnte, und 2., daß sie durch die Bewegungen und den Geißelschlag der Bazillen und die dadurch bedingte Strömung der Nährbodenflüssigkeit

oft von einem Quadrat der Zählkammer in ein anderes gelangten, so daß die Gefahr der doppelten Zählung unvermeidlich erschien.

So galt es, die am besten geeignete Färbemethode für die Sporen zu ermitteln. Neben den Färbemethoden nach Möller und Konrich wurden die von Klein und Möller-Fränkel angewandt. Jedoch zeigten sich auch hier keine befriedigenden Resultate, da die Sichtbarmachung der Sporen in den meisten Fällen eine zu geringe war und deshalb ihre quantitative Erfassung in Frage gestellt schien. Brauchbare Ergebnisse hingegen erbrachte die Färbemethode nach Gram.

1. Vorversuchsreihe:

Vorversuche: Sie wurden damit begonnen, daß wir Gartenerde 24 Stunden in Bouillon bei Brutschranktemperatur hielten und dann von dieser Bouillon auf Agarplatten eine fraktionierte Aussaat machten. Diese Platten wurden weitere 24 Stunden bebrütet. So erhielten wir eine Subtilis-Reinkultur. Diese Reinkultur wurde in ein Bouillon-Röhrchen überimpft und zeigte nach 24 Stunden bei Brutschranktemperatur eine starke Trübung mit beginnender Häutchenbildung. Von dieser Bouillon wurde je 0,1 ccm in 24 Röhrchen, die mit einem festschließenden Korkstopfen versehen waren, hineinpipetiert. Jedes Röhrchen hatte einen Durchmesser von 11 mm, und seine Länge betrug 13 cm, es war mit 5 ccm Bouillon gefüllt. 6 von diesen Röhrchen wurden im Brutschrank bei 37° C geschüttelt, 6 im Brutschrank bei 37° C im Ruhezustand bebrütet. Das Gleiche geschah mit je 6 der übrigen Röhrchen bei Zimmertemperatur. Die Korken der geschüttelten Röhrchen wurden zur besseren Abdichtung mit einer Paraffinschicht überzogen. Nach 24 Stunden wurde von jedem der 4×6 Röhrchen eine Normalöse entnommen und auf einen mit Diamant auf einem Objektträger eingeritzten cm ² verrieben. Zur Entfettung hatten die Objektträger 24 Stunden in Chromschwefelsäure gelegen. Die Präparate wurden über der Flamme fixiert und nach Gram gefärbt. Unter dem Mikroskop zeigten sich bei 980facher Vergrößerung im Blickfeld nur ganz vereinzelt Sporen, so daß die Röhrchen weitere 24 Stunden den oben erwähnten Bedingungen ausgesetzt wurden. Nach 48 Stunden zeigte sich eine so starke Häutchenbildung bei den ungeschüttelten Röhrchen, daß an eine quantitative Erfassung der Sporen nicht zu denken war. Um die Häutchenbildung zu vermeiden, stellten wir eine starke Oberflächenvergrößerung der Bouillon

her, indem wir an Stelle der Reagenzgläschen Glasflaschen von 100 ccm Inhalt mit eingeschliffenen Glasstopfen verwendeten. Diese Glasflaschen wurden dann liegend den oben erwähnten Bedingungen ausgesetzt.

Hauptversuch: Es wurde ein neuer Subtilis-Stamm, der ebenfalls aus Gartenerde in schon beschriebener Weise gezüchtet worden war, verwendet. Als ersten Nährboden benutzten wir den für die Vermehrung der Subtilisbazillen günstigsten: Bouillon.
Die Versuchsanordnung des Vorversuches wurde beibehalten, nur an Stelle der Reagenzröhrchen wurden die oben erwähnten Glasflaschen verwendet. Nach 48 Stunden wurden nach Anfertigung von Präparaten und nach Färben derselben nach der Methode von Gram von jedem cm ² 20 Blickfelder unter dem Mikroskop nach Sporen durchsucht. Diese wurden gezählt. Das Ergebnis zeigt:

Uebersicht 1

Subtilis im Nährboden Bouillon

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 19° ungeschüttelt	+ 19° geschüttelt	Unterschied
1	116	54		124	39	
2	144	85		89	48	
3	201	148		112	74	
4	162	182		78	12	
5	228	62		94	62	
6	149	122		63	30	
Durchschnitt	166	108	58	93	44	49

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 19° ungeschüttelt	+ 19° geschüttelt	Unterschied
1	164	149		126	118	
2	234	132		49	93	
3	380	204		138	126	
4	319	189		126	142	
5	426	243		163	124	
6	264	271		194	69	
Durchschnitt	281	198	83	133	110	23

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 166/108
19° 93/ 44
nach 72 Stunden bei 37° 281/198
19° 133/110

Es zeigte sich, daß die Durchschnittswerte der ungeschüttelten Röhrchen höher lagen als die Werte der geschüttelten. Die den schlechteren Lebensbedingungen (+ 19°) ausgesetzten Bazillen zeigten geringere Durchschnittswerte der Sporen sowohl bei den geschüttelten, wie bei den ungeschüttelten Röhrchen.

2. Versuch: Ein zweiter Versuch mit derselben Anordnung wie im Hauptversuch wurde mit einem schon länger im Laboratorium verwendeten Subtilis-Stamm ausgeführt. Er brachte folgende Durchschnittswerte:

Uebersicht 2

Subtilis-Bouillon

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 20° ungeschüttelt	+ 20° geschüttelt	Unterschied
1	94	82		78	60	
2	165	96		69	48	
3	76	112		131	70	
4	201	162		72	82	
5	82	73		69	91	
6	65	160		81	30	
Durchschnitt	113	114	+1	83	63	20

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 19° ungeschüttelt	+ 19° geschüttelt	Unterschied
1	126	142		140	82	
2	194	185		137	69	
3	91	204		112	102	
4	241	136		88	96	
5	281	140		146	135	
6	196	122		120	72	
Durchschnitt	188	155	33	124	92	32

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 113/114
bei 20° 83/ 63
nach 72 Stunden bei 37° 188/155
bei 19° 124/ 92.

Der Unterschied der Durchschnittswerte der Sporen war bei der Zählung nach 48 Stunden ein geringer, bei den in Brutschranktemperatur gehaltenen Bazillen war bei geschüttelten sogar der Durchschnitt größer, als bei den ungeschüttelten. Die geringe Differenz der Durchschnittswerte vor allem nach 48 Stunden ließ vermuten, daß ein älterer Subtilis-Stamm, der im Laufe von Monaten schon verschiedene Sporulations- und Entsporungsstadien durchlaufen hat, in Bezug auf seine Versporungsintensität so verändert ist, daß diese mit der längeren Lebensdauer des Bazillus abnimmt.

Daher wurde ein dritter Versuch nötig. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie bei Versuch 1, nur wurde die Subtilis-Reinkultur aus Erde gewonnen, die wir den mit Erde gefüllten Zwischenräumen zweier Pflastersteine entnahmen:

Uebersicht 3

Subtilis-Bouillon

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 20° ungeschüttelt	+ 20° geschüttelt	Unterschied
1	61	31		12	9	
2	78	84		41	14	
3	114	24		17	22	
4	181	31		29	6	
5	68	29		80	31	
6	84	65		91	15	
Durchschnitt	98	44	54	45	16	29

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 20° ungeschüttelt	+ 20° geschüttelt	Unterschied
1	242	107		41	20	
2	220	142		39	31	
3	191	70		58	52	
4	214	88		71	18	
5	130	106		60	122 ?	
6	211	140		36	48	
Durchschnitt	201	109	92	51	49	2

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden	bei 37°	98/ 44
	bei 20°	45/ 16
nach 72 Stunden	bei 37°	201/109
	bei 20°	51/ 49

Die errechneten Durchschnittswerte gleichen denen des 1. Versuches. Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß Subtilis in einem geschüttelten Bouillon-Nährboden in seiner Sporulation gehemmt ist, außerdem zeigte sich, daß sowohl bei geschüttelter wie bei ungeschüttelter Bouillon die Sporenbildung mit abnehmender Temperatur eine geringere wurde. Der Unterschied der Durchschnittswerte der Sporen war bei den auf 20° gehaltenen Bazillen kleiner als bei den im Brutschrank bebrüteten. Wir glaubten, daraus schließen zu können, daß mit Eintritt von schlechteren Lebensbedingungen die Versporungsfähigkeit des Bazillus Subtilis so herabgesetzt wird, daß der Einfluß des Schüttelns ein nicht so großer ist wie bei günstigen Nährbodenverhältnissen.

2. Versuchsreihe:

Wir wollten Bazillus Subtilis einem Nährboden aussetzen, der ihm schlechte Lebensbedingungen bietet und wählten deshalb Wasser.

Vorversuche: Zunächst wurde der Versuch genau so aufgebaut wie im Hauptversuch mit Bouillon-Nährboden. Bei Durchsicht von Präparaten, die nach 24 Stunden angefertigt worden waren, ergab sich jedoch eine noch geringere Sporenbildung als in Bouillon, so daß in vielen Blickfeldern keine Spore zu sehen war. Nach 48 Stunden zeigte sich kein wesentliches Anwachsen von Sporen, außerdem war das Blickfeld vielfach beherrscht von Zerfallprodukten der Subtilis-Bazillen, die sich Gram — färbten. Dies war vor allem bei den geschüttelten Bazillen der Fall. Unser Bestreben mußte aber dahin gehen, möglichst große Subtilis-Mengen von annähernd gleichen Keimzahlen zu gewinnen.

Hauptversuch: Bazillus: Subtilis. Nährboden: Wasser. Mit je 2 Normalösen einer aus Gartenerde gewonnenen Subtilis-Bouillon wurden 120 Reagenzgläschen beimpft, in denen sich je 5 ccm Bouillon befanden. Diese wurden 24 Stunden bei Brutschranktemperatur gehalten. Der Inhalt von jeweils 5 Reagenzgläschen (25 ccm) wurde in sterile Zentrifugen-Röhrchen gebracht und steril 5 Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abpipetieren der über dem Zentrifugat stehenden Bouillon wurde 1 ccm steriles

Leitungswasser dem Zentrifugat beigesetzt und solange geschüttelt, bis das gesamte Zentrifugat eine gleichmäßige Trübung zeigte. Davon pipetierten wir je 0,5 ccm in 24 zu unseren Versuchen verwendeten Röhrchen, die je mit 5 ccm sterilisiertem Leitungswasser gefüllt waren.

Röhrchen wurden an Stelle der Glasflaschen verwendet, da wir nach den im Vorversuch gemachten Erfahrungen nicht mit dem Auftreten einer Häutchenbildung rechnen konnten.

Die 24 in erwähnter Weise beimpften Röhrchen wurden den oben beschriebenen Bedingungen ausgesetzt und nach 24 Stunden das erste Mal, nach 48 Stunden das zweite Mal ausgezählt:

Uebersicht 4

Subtilis in Wasser

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	84	67		131	44	
2	104	14		62	28	
3	214	86		69	24	
4	161	71		185	8	
5	76	24		48	37	
6	180	29		100	51	
Durchschnitt	137	48	89	99	32	67

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	164	91		121	39	
2	152	143		52	19	
3	228	126		93	42	
4	263	71		88	96	
5	129	133		147	62	
6	183	60		104	31	
Durchschnitt	187	104	83	101	48	53

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden	bei 37°	137/ 48
	bei 18°	99/ 32
nach 48 Stunden	bei 37°	187/104
	bei 18°	101/ 48

Wie aus den Vorversuchen der 2. Versuchsreihe ersichtlich, ist die Vermehrung und Sporenbildung von Bazillus Subtilis in Wasser, also einem ungünstigen Nährboden, ganz beträchtlich herabgesetzt gegenüber dem günstigen Nährboden Bouillon.

Es bestehen bei den Versuchen mit Bazillus Subtilis in Wasser keine großen Unterschiede in den gefundenen Durchschnittswerten mit denen der Bouillon-Versuche, obwohl doch die Keimzahl eine bedeutend größere war.

Ein zweiter Versuch, der in der gleichen Weise wie der zuletzt beschriebene mit einem aus einer anderen Gartenerde gewonnenen Subtilis-Stamm durchgeführt wurde, bestätigt ebenfalls, daß die Sporenbildung in demselben Maße sich vermindert, als der Nährboden und die Einflüsse der Umwelt ungünstigere werden.

Uebersicht 5

Subtilis in Wasser

Sporenbildung nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	281	146		110	62	
2	240	191		48	58	
3	172	144		52	43	
4	161	106		136	70	
5	325	81		141	82	
6	234	133		93	94	
Durchschnitt	235	133	102	97	67	30

Sporenbildung nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	482	192		126	89	
2	306	211		92	76	
3	281	87		113	82	
4	132	116		109	51	
5	107	101		76	47	
6	273	52		111	76	
Durchschnitt	264	126	138	104	70	34

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden	bei + 37°	235/133
	bei + 18°	97/ 67
nach 48 Stunden	bei + 37°	264/126
	bei + 17°	104/ 70

Auch in diesem Versuche zeigte sich deutlich, daß der Unterschied der Durchschnittswerte der Sporen bei den auf + 18° C, bzw. + 17° C gehaltenen Subtilis-Bazillen bedeutend kleiner war, als bei dem mit 37° bebrüteten Bazillen, so daß die nach Uebersicht 3 ausgesprochene Vermutung sich zu bestätigen scheint, daß mit Eintritt der schlechteren Lebensbedingungen die Versporungsfähigkeit der Subtilis-Bazillen so herabgesetzt ist, daß der Einfluß des Schüttelns ein nicht so großer ist wie bei den günstigen Nährbodenverhältnissen.

3. Versuchsreihe:

Wir setzten den Bazillus Subtilis einem Nährboden aus, in dem er dieselben Ernährungsbedingungen vorfinden sollte, wie sie ihm normalerweise gegeben sind. Deshalb wählten wir: Milch.

Vorversuche: Diese wurden in derselben Weise durchgeführt wie im zuletzt beschriebenen Versuch. Bei Durchsicht der Präparate zeigten sich eine große Menge Gram + gefärbte Gerinnungsprodukte. Wir vermuteten in ihnen eine große Menge Bazillen und Sporen. Diese blieben dem Auge verborgen. Es gelang nicht, diese Gerinnungsprodukte auszuschalten. Die Fettbestandteile der Milch sammelten sich nach einiger Zeit an der Oberfläche der geschüttelten Röhrchen, nachdem diese dem Schüttelapparat entnommen und in Ruhe gehalten worden waren. Die Fettschicht wurde steril abpipetiert. Wir entnahmen, um bei allen Röhrchen eine gleich große Menge abzupipetieren, je Röhrchen 1 ccm.

Hauptversuch: Wir bauten ihn in derselben Weise auf wie bei Bazillus Subtilis in Wasser, indem wir 120 Reagenzgläschen von je 5 ccm Bouillon-Inhalt mit 2 Normalösen einer aus Gartenerde gewonnenen Subtilis-Bouillon-Kultur beimpften und 24 Stunden bei Brutschranktemperatur hielten. Der Inhalt von jeweils 5 Reagenzgläschen (25 ccm) wurde in sterile Zentrifugenröhrchen gebracht und steril 5 Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abpipetieren der über dem Zentrifugat stehenden Bouillon wurde

1 ccm sterilisierte Milch dem Zentrifugat zugesetzt und so lange geschüttelt, bis das gesamte Zentrifugat eine gleichmäßige Trübung zeigte. Davon pipetierten wir je 0,5 ccm in 24 der oben erwähnten Röhrchen, die mit je 5 ccm sterilisierter Milch gefüllt waren.

Uebersicht 6

Subtilis in Milch

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	29	18		20	9	
2	31	14		21	17	
3	24	12		38	20	
4	28	48		11	32	
5	41	3		24	16	
6	12	26		30	27	
Durchschnitt	28	20	8	24	20	4

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	69	51		30	39	
2	71	72		29	41	
3	58	46		44	26	
4	82	91		39	48	
5	105	52		56	23	
6	84	43		42	19	
Durchschnitt	78	59	19	40	33	7

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 28/20
bei 17° 24/20

nach 48 Stunden bei 37° 78/59
bei 17° 40/33

Mit einem anderen Subtilis-Stamm wurde ein zweiter Versuch gemacht, der in seinem Aufbau dem vorhergehenden Versuch genau glich.

Uebersicht 7

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	39	29		31	41	
2	48	19		22	33	
3	22	31		26	27	
4	35	26		17	25	
5	44	42		37	31	
6	43	53		24	13	
Durchschnitt	39	33	6	26	28	+2

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	102	51		61	51	
2	84	31		69	11 ?	
3	79	39		38	48	
4	90	71		41	31	
5	114	82		62	29	
6	126	40		57	26	
Durchschnitt	99	52	47	55	33	22

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 39/33
bei 18° 26/28

nach 48 Stunden bei 37° 99/52
bei 18° 55/33

Bei beiden Versuchen wurden nur die wirklich freiliegenden Sporen gezählt. Ihre geringe Anzahl im Blickfeld schien uns zu beweisen, daß ein großer Teil der Sporenmenge durch die Gerinnungsprodukte verdeckt worden war, so daß eine exakte Feststellung der Sporenzahl sehr in Frage gestellt schien. So dürfte es auch zu erklären sein, daß beim Auszählen der Sporen nach 24 Stunden bei 18° ihre Zahl bei den geschüttelten Röhrchen größer war als bei den ungeschüttelten, da den Bazillen bei den geschüttelten Röhrchen keine Gelegenheit gegeben war, sich an die Gerinnungsprodukte anzusetzen oder in sie einzudringen.

4. Versuchsreihe:

ausgeführt mit Bazillus Tetanus; als Nährboden wählten wir Leberbouillon. Aus technischen Gründen war es unmöglich, die Röhrchen anaerob zu schütteln, so daß wir uns entschließen mußten, die Versuche in Form der Aerobier-Versuche durchzuführen. Bei den

Vorversuchen stellte es sich heraus, daß bei Ueberimpfung vermittels selbst hergestellter Kapillaren

a) die überimpfte Keimzahl eine zu geringe war,

b) die überimpften Mengen so beträchtliche Schwankungen zeigten, daß sie für unsere Versuche nicht in Frage kamen.

Es wurde von einer im Zeißler-Topf anaerob gezüchteten Tetanus-Leber-Bouillon-Kultur nach 48 Stunden je 0,1 ccm mit Hilfe von sterilen Pipetten in 24 Stunden Leber-Bouillon-Röhrchen gebracht. Die Leberstückchen waren so groß bemessen worden, daß sie sich beim Schüttelprozeß nicht im Röhrchen bewegen konnten. Wir erreichten damit, daß keine Leberbestandteile in die Bouillon gelangten, die sich später im Präparat hätten mitfärben können. 6 der beimpften Röhrchen wurden bei 37° C geschüttelt, 6 bei 37° C in Ruhe bebrütet, 6 bei Zimmertemperatur geschüttelt, 6 in Ruhe gehalten. Nach 24 Stunden zeigte sich jedoch eine so starke Gasbildung, daß die Korkstopfen zum Teil gelockert, zum Teil sogar aus dem Röhrchen getrieben worden waren.

Hauptversuch: Er wurde in eben beschriebener Anordnung durchgeführt. Zum besseren Halt der Korkstopfen umgaben wir sie mit einer dickeren Paraffinschicht und bauten Widerlager derart ein, daß zwischen Kastenwand und Korkstopfen Holzklötze geschoben wurden, die die Korkstopfen fest gegen die Innenwand des Reagenzgläschens preßten. Die Sporen wurden nach 48 und 72 Stunden ausgezählt.

Uebersicht 8

Tetanus in Leber-Bouillon

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	101	37		71	26	
2	71	48		43	7 ?	
3	48	90		52	41	
4	184	26		132	32	
5	552	46		76	53	
6	86	34		41	57	
Durchschnitt	90	47	43	69	36	33

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	146	69		142	40	
2	269	143		191	13	
3	223	71		92	36	
4	251	90		161	71	
5	173	89		84	72	
6	146	51		63	59	
Durchschnitt	201	86	115	122	49	73

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 90/47
bei 18° 69/36

nach 72 Stunden bei 37° 201/86
bei 18° 122/49

Ein zweiter Versuch wurde in gleicher Weise mit einem anderen Tetanus-Stamm durchgeführt.

Uebersicht 9

Tetanus in Leber-Bouillon

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	125	101		94	39	
2	184	84		112	82	
3	74	79		136	126	
4	226	141		108	68	
5	152	61		134	119	
6	104	127		62	73	
Durchschnitt	144	99	45	108	84	24

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	291	164		249	64	
2	308	111		228	103	
3	141	192		173	181	
4	398	92		242	82	
5	242	84		151	76	
6	153	143		176	104	
Durchschnitt	256	129	127	205	102	103

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 144/99
bei 18° 108/84

nach 72 Stunden bei 37° 256/129
bei 18° 205/102

Die in den beiden Versuchen ermittelten Durchschnittswerte zeigten vor allem nach 48 Stunden eine ganz beträchtliche Differenz zwischen den geschüttelten und ungeschüttelten Röhrchen, die Anlaß zu folgenden Vermutungen gab, daß

1. durch das Schütteln der Tetanus-Bazillen der Geißelapparat mehr geschädigt wird als derjenige des Bazillus Subtilis,

2. durch Schädigung des Geißelapparates der Bazillus nicht „physiologisch altern", also keine Sporen bilden können,
3. durch die intensive Einwirkung von Sauerstoff während des Schüttelprozesses der Bazillus ebenfalls Schaden leidet.

5. Versuchsreihe:

Bazillus: Tetanus. Nährboden: Wasser.

Da wir annahmen, daß die Sporenbildung von Tetanus-Bazillen in dem schlechten Nährboden Wasser ebenso eine geringe sein würde wie bei Bazillus Subtilis in Wasser, so entschlossen wir uns, den

Hauptversuch: in gleicher Weise auszuführen wie bei Bazillus Subtilis in Wasser.

120 Reagenzgläschen wurden mit 0,1 ccm Leberbouillon der Stammkultur beimpft und im Zeißler-Topf 24 Stunden anaerob bebrütet. Den Inhalt von jeweils 5 Reagenzgläschen (25 ccm) filtrierten wir durch eine 2fache sterile Mullschicht in sterile Zentrifugen-Röhrchen, so daß die Leberstückchen nicht mit in das Zentrifugenröhrchen gelangen konnten.

Das Zentrifugat wurde in 1 ccm sterilisiertem Leitungswasser so lange geschüttelt, bis eine Suspension erreicht worden war. Je 0,5 ccm der Suspension wurde auf 24 Reagenzröhrchen pipetiert, in denen sich je 5 ccm sterilisiertes Leitungswasser befanden. Diese Röhrchen wurden, wie oben erwähnt, geschüttelt und in Ruhe gehalten. Die Sporen wurden nach 48 und nach 72 Stunden gezählt.

Uebersicht 10

Tetanus in Wasser

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	502	282		483	84	
2	648	129		112	108	
3	419	182		604	72	
4	432	242		184	101	
5	511	311		376	123	
6	429	209		431	61	
Durchschnitt	490	226	244	365	92	273

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	631	302		512	92	
2	529	241		236	124	
3	538	261		606	90	
4	472	293		172	154	
5	633	648		284	198	
6	736	330		492	122	
Durchschnitt	590	346	244	384	130	254

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 490/226
bei 18° 365/92

nach 72 Stunden bei 37° 590/346
bei 19° 384/130

Da sich das Auszählen der im Blickfeld befindlichen großen Sporenmengen sehr schwierig gestaltete und die Gefahr nahelag, daß manche Sporen mehrfach gezählt wurden, so setzten wir in dem mit einem anderen Tetanus-Stamm ausgeführten zweiten Versuch den 5 ccm sterilisierten Leitungswasser nur 0,25 ccm der Suspension zu.

Uebersicht 11

Tetanus in Wasser

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 19° ungeschüttelt	+ 19° geschüttelt	Unterschied
1	212	114		176	31	
2	193	91		165	48	
3	241	204		182	108	
4	66 ?	142		100	50	
5	281	237		113	75	
6	253	107		93	85	
Durchschnitt	208	149	59	138	66	72

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	284	129		283	43	
2	126	131		211	59	
3	271	201		240	143	
4	68 ?	189		121	126	
5	284	256		122	116	
6	256	177		94	83	
Durchschnitt	215	181	34	179	95	84

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 208/149
bei 18° 138/66

nach 72 Stunden bei 37° 215/181
bei 18° 179/95

6. Versuchsreihe:

Bazillus: Tetanus. Nährboden: Milch.

Hauptversuch: Dieser entsprach in seinem Aufbau dem der vorhergehenden 5. Versuchsreihe.
Es wurden in beiden Versuchen 0,5 ccm Suspension in 5 ccm sterilisierte Milch je Röhrchen pipetiert.

Uebersicht 12

Tetanus in Milch

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 16° ungeschüttelt	+ 16° geschüttelt	Unterschied
1	255	109		128	69	
2	181	111		101	27	
3	378	247		127	110	
4	221	188		146	48	
5	391	241		173	92	
6	248	212		77 ?	36	
Durchschnitt	279	185	94	125	64	61

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 16° ungeschüttelt	+ 16° geschüttelt	Unterschied
1	308	211		198	104	
2	491	341		242	142	
3	502	423		173	248	
4	300	252		284	88	
5	352	311		247	106	
6	399	200		221	81	
Durchschnitt	390	290	100	228	128	100

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 279/185
bei 16° 125/64

nach 72 Stunden bei 37° 390/290
bei 16° 228/128

Ein zweiter Versuch wurde mit einem anderen Tetanus-Stamm in derselben Anordnung wie im vorhergehenden Versuch durchgeführt:

Uebersicht 13

Tetanus in Milch

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	98 ?	192		121	42	
2	101	312		180	171	
3	318	248		41 ?	77	
4	242	130		187	148	
5	154	200		92	132	
6	210	146		64	81	
Durchschnitt	187	205	+18	114	109	5

Sporenzahl nach 72 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	289	102		241	172	
2	244	208		221	134	
3	391	141		126	110	
4	310	173		196	151	
5	236	341		103	126	
6	284	270		122	193	
Durchschnitt	292	106	186	168	148	20

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 48 Stunden bei 37° 187/205
bei 17° 114/109

nach 72 Stunden bei 37° 292/106
bei 17° 168/148

Während im ersten Versuch die Differenzen der Durchschnittswerte der Sporen den Erwartungen entsprechen, ergaben sich im zweiten Versuch nach 48 Stunden bei Brutschranktemperatur bei den geschüttelten Röhrchen größere Sporenmengen als in den ungeschüttelten, während bei den unter Tagestemperaturen gehaltenen Röhrchen die Differenz so unbedeutend war, daß sie praktisch wertlos schien. Die bei dem Versuch mit Bazillus Subtilis in Milch ausgesprochenen Vermutungen schienen sich wenigstens zum Teil zu bestätigen.

7. Versuchsreihe:

ausgeführt mit Rauschbrandbazillus. Als Nährboden wählten wir wie bei der 4. Versuchsreihe Leberbouillon. Der Aufbau des

Hauptversuchs: ist der gleiche wie bei Bazillus Tetanus in Leberbouillon.

Bei diesem Versuche zeigten sich jedoch schon nach 24 Stunden so große Sporenmengen im Blickfelde des Mikroskops, daß wir die erste Zählung bereits nach 24 Stunden vornahmen, die zweite Zählung dann nach 48 Stunden.

Uebersicht 14

Rauschbrand in Leberbouillon

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	528	211		493	137	
2	419	142		578	98	
3	564	156		519	76	
4	309	42		412	84	
5	541	133		355	122	
6	476	251		521	157	
Durchschnitt	473	156	317	480	112	368

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	728	491		521	184	
2	847	200		700	160	
3	1041	149		423	192	
4	613	333		470	230	
5	722	140		378	168	
6	564	329		499	147	
Durchschnitt	752	274	478	497	180	317

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 473/156
bei 18° 480/112

nach 48 Stunden bei 37° 752/274
bei 18° 497/180

Ein zweiter Versuch wurde genau so wie der Hauptversuch aufgebaut, nur wurde ein anderer Stamm Rauschbrandbazillen verwendet.

Uebersicht 15

Rauschbrand in Leberbouillon

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	304	141		344	109	
2	286	89		82 ?	42 ?	
3	392	77		340	130	
4	364	192		401	184	
5	511	178		239	179	
6	330	188		244	211	
Durchschnitt	364	144	220	275	143	132

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	510	211		397	121	
2	728	191		402	79	
3	1082	173		518	134	
4	473	416		213	176	
5	520	198		719	215	
6	700	214		540	228	
Durchschnitt	669	234	435	465	159	306

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 364/144
bei 18° 275/143

nach 48 Stunden bei 37° 669/234
bei 18° 465/159

Die hohe Differenz der Durchschnittswerte war uns eine Bestätigung der schon oben ausgesprochenen Vermutung, daß durch das Schütteln der Bazillen der Geißelapparat so geschädigt wird, daß der Bazillus das Stadium des physiologischen Alterns nicht erreicht, also keine Sporen bilden kann. Die Frage, ob der Bazillus abstirbt oder nur degenerative Veränderungen erfährt, müssen wir offen lassen. Außerdem glaubten wir durch obenstehende Durchschnittswerte eine Bestätigung dafür zu finden, daß der Bazillus durch die intensive Einwirkung von Sauerstoff Schaden erleidet.

Im Blickfeld waren Zerfallsprodukte von Rauschbrand-Bazillen sichtbar, die sich Gram — färbten. Dies war vor allem der Fall bei den Präparaten, die wir von dem Inhalt der geschüttelten Röhrchen anfertigten. Diese Zerfallsprodukte waren wohl in erster Linie auf den Einfluß der Schüttelbewegung zurückzuführen. Sie bestärkten uns in der oben ausgesprochenen Annahme.

8. Versuchsreihe:

Bazillus: Rauschbrand. Als schlechter Nährboden wurde Wasser gewählt.

Die Anordnung des

Hauptversuches war die gleiche wie bei den Versuchen mit Bazillus Tetanus in Wasser.

Es wurden 0,5 ccm der Suspension auf jedes der 24 Röhrchen pipetiert.

Auch in diesem Versuch konnten wir nach 24 Stunden die erste Sporenzählung vorzunehmen.

Uebersicht 16

Rauschbrand in Wasser

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	142	48		162	23	
2	116	56		122	19	
3	139	94		114	8	
4	86	96		109	17	
5	152	48		186	26	
6	173	72		125	35	
Durchschnitt	135	69	66	136	21	115

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	186	74		194	42	
2	192	71		203	29	
3	144	74		161	19	
4	162	148		131	28	
5	171	03		236	41	
6	225	126		148	46	
Durchschnitt	180	99	81	179	34	145

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 135/69
bei 17° 136/21
nach 48 Stunden bei 37° 180/99
bei 18° 179/34

Mit einem anderen Rauschbrand-Bazillen-Stamm wurde ein zweiter Versuch in der im letzten Versuch angegebenen Anordnung durchgeführt.

Uebersicht 17

Rauschbrand in Wasser

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	264	63		189	80	
2	183	123		176	75	
3	74	74		141	62	
4	126	89		160	55	
5	184	146		214	30	
6	152	130		229	12	
Durchschnitt	181	104	77	185	52	133

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 18° ungeschüttelt	+ 18° geschüttelt	Unterschied
1	162	73		191	84	
2	184	140		162	60	
3	222	89		153	92	
4	238	71		188	97	
5	240	152		242	102	
6	363	126		237	126	
Durchschnitt	235	109	126	196	94	102

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 181/104
bei 17° 185/52
nach 48 Stunden bei 37° 235/109
bei 18° 196/94

Obwohl dem sterilen Leitungswasser mengenmäßig bei weitem mehr Rauschbrand-Bazillen zugegeben wurden, zeigte sich bei allen Bedingungen, denen die Keime ausgesetzt waren, ein wesentliches Zurückbleiben in der Versporung gegenüber dem Versuche, in dem wir Rauschbrand-Bazillen in Leberbouillon geschüttelt und in Ruhe bei Brutschrank- bzw. Zimmertemperatur gehalten hatten.

9. Versuchsreihe:

Bazillus: Rauschbrand; Nährboden: Milch. Die Versuchsanordnung des Hauptversuchs: war die gleiche wie bei den Versuchen Bazillus Tetanus in Milch.

Nach 24 Stunden konnten wir hier die erste Sporenzählung vornehmen.

Uebersicht 18

Bazillus: Rauschbrand. Nährboden: Milch

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 17° ungeschüttelt	+ 17° geschüttelt	Unterschied
1	121	102		188	204	
2	94	184		104	263	
3	171	101		126	182	
4	134	80		134	170	
5	126	71		190	126	
6	180	109		100	131	
Durchschnitt	138	108	30	140	179	+39

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 15° ungeschüttelt	+ 15° geschüttelt	Unterschied
1	241	182		190	221	
2	400	173		222	281	
3	397	149		261	196	
4	341	188		324	184	
5	360	190		191	173	
6	213	131		177	233	
Durchschnitt	325	169	156	228	215	13

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 138/108
bei 17° 140/179
nach 48 Stunden bei 37° 325/169
bei 15° 228/215

Mit einem anderen Stamm von Rauschbrand-Bazillen führten wir einen zweiten Versuch unter denselben Bedingungen wie den vorgehenden aus.

Uebersicht 19

Rauschbrand in Milch

Sporenzahl nach 24 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 16° ungeschüttelt	+ 16° geschüttelt	Unterschied
1	101	131		133	103	
2	93	122		80	90	
3	141	102		76	101	
4	78	141		40	82	
5	62	89		126	76	
6	170	136		133	99	
Durchschnitt	108	120	+12	98	92	6

Sporenzahl nach 48 Stunden:

Röhrchen	+ 37° ungeschüttelt	+ 37° geschüttelt	Unterschied	+ 16° ungeschüttelt	+ 16° geschüttelt	Unterschied
1	229	171		167	179	
2	149	193		104	240	
3	163	160		126	231	
4	184	142		49 ?	100	
5	172	160		171	109	
6	135	117		194	141	
Durchschnitt	172	157	15	135	167	+32

Verhältnis der Durchschnittswerte der ungeschüttelten zu den geschüttelten Röhrchen

nach 24 Stunden bei 37° 108/120
bei 16° 98/92
nach 48 Stunden bei 37° 172/157
bei 16° 135/167

Auch in diesen letzten beiden Versuchen zeigte sich, daß oft die Durchschnittswerte der Sporen der geschüttelten Bazillen höher waren

als die der ungeschüttelten. Da bei sämtlichen anderen Versuchen — außer bei Versuch 2 der 1. Versuchsreihe — die Durchschnittswerte der Sporenzahl bei den ungeschüttelten Bazillen größer waren als bei den geschüttelten, so glaubten wir, auch in diesen letzten beiden Versuchen die Bestätigung zu finden, daß ein großer Teil der Sporenmenge durch die Gerinnungsprodukte verdeckt wurde. Die Versuche sind also praktisch wertlos.

Zusammenfassend läßt sich folgendes sagen:

1. Die Versporung von Anaerobiern und Aerobiern ist in Bouillon, bzw. Leberbouillon, Wasser und Milch (?), die, wie beschrieben, geschüttelt wurden, eine geringere als in Nährböden, die sich in Ruhe befanden.
2. Die Versporung von Bazillen wurde mit Herabsetzen der Temperatur des sich in Ruhe befindenden Nährbodens ebenfalls eine geringere als bei höheren Temperaturen.
3. Die Versporung in geschüttelten Nährböden war bei niedrigen Temperaturen eine geringere als bei Brutschranktemperatur.
4. Die untersuchten Anaerobier zeigten eine geringere Sporenbildung in geschüttelten Nährböden als Bazillus Subtilis.
5. In einem für den betreffenden Bazillus ungünstigen Nährboden ist die Sporulation eine geringere als in einem Nährboden, der dem Bazillus günstige Lebensbedingungen bietet.

Wir dürfen also annehmen, daß die Lebensfunktionen von Bazillen durch Schütteln so beeinflußt werden, daß ihre Sporenbildung verzögert wird und in geringerem Maße vor sich geht, was dadurch einzutreten scheint, daß der normale Prozeß des Alterns zeitlich hinausgeschoben oder unmöglich gemacht wird. Ob es dabei im Bazillus zu degenerativen Veränderungen kommt oder ob er abstirbt, harrt noch einer Klärung.

Kommt zu dem Schütteln noch eine schlechtere Lebensbedingung durch Temperaturherabsetzung, so wird dadurch die Versporung von Bazillen eine noch geringere. Die geringere Sporulation der zu unserem Versuch benutzten Anaerobier im Gegensatz zu Subtilis erklärten wir uns damit, daß der Geißelapparat von Bazillus Subtilis widerstandsfähiger ist als die Geißelapparate von Bazillus Tetanus und Bazillus Rauschbrand sind. Durch das Zerstören des Geißelapparates aber, der zur Nahrungsaufnahme und zur Fortbewegung dient, wird auch der Bazillus in all seinen Lebensfunktionen aufs schwerste geschädigt. Außerdem glaubten wir, daß sich die intensive Einwirkung des Sauerstoffs auf die geschüttelten Anaerobier hemmend auf die Sporenbildung auswirkte. Die gewonnenen Ergebnisse scheinen eine Bestätigung der eingangs erwähnten allgemeinen Theorien für die Voraussetzung der Sporenbildung von Bazillen zu sein.

Literatur

1. v. Daranyi, J.
Zbl. f. Bakt. Abt. II. (1927), 1. S. 353
Zbl. f. Bakt. I. Org. 117, 543—549 (1930)

2. Schreiber
Zbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XX. Nr. 10—13

Lebenslauf

Am 13. April 1913 wurde ich, Hans Heinrich Wittich, als Sohn des Oberstudiendirektors Hermann Wittich und seiner Ehefrau Doris geb. Glas in Meißen geboren. Von 1919—1923 besuchte ich die I. Volksschule in Meißen. Ostern 1923 bestand ich die Aufnahmeprüfung für die Sexta des Franziskaneums (Realgymnasium) zu Meißen, das ich bis zur bestandenen Reifeprüfung Ostern 1933 besuchte. Das Studium der Medizin begann ich in Greifswald, wo ich am 27. April 1934 den I. Teil und am 4. Juli 1935 den II. Teil der ärztlichen Vorprüfung ablegte. Am 1. November 1935 trat ich als Fahnenjunker (i. San.-Korps) ins Heer ein und wurde nach sechsmonatiger Grundausbildung beim I.-R. 11 in Leipzig zur Militärärztlichen Akademie kommandiert. Seitdem studiere ich an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin und stehe im 11. Semester.

Ich möchte an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Oberstarzt Dozent Dr. Brekenfeld, für die Zuweisung der Arbeit und die mir jederzeit freundlich gewährte Unterstützung meinen gehorsamsten Dank aussprechen.